



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: FORMAS FARMACÉUTICAS PARA LA
ADMINISTRACIÓN DE RILUZOL Y
EDARAVONE EN EL TRATAMIENTO DE LA
ELA**

Autor: Alba López Salvador

Fecha: Julio 2020

Tutor: Ana María Fernández Carballido

Contenido

RESUMEN	3
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	3
OBJETIVOS	5
MATERIALES Y MÉTODOS	5
RESULTADOS	5
MEDICAMENTOS AUTORIZADOS Y MEDICAMENTOS HUÉRFANOS	5
➤ RILUZOL	5
➤ EDARAVONE	7
NUEVOS SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE RILUZOL	9
NUEVOS SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE EDARAVONE	10
➤ COMPRIMIDOS SUBLINGUALES DE EDARAVONE	10
➤ FORMULACIÓN ORAL LÍQUIDA DE EDARAVONE	12
➤ NANOSISTEMAS LIPÍDICOS DE EDARAVONE	14
DISCUSIÓN	16
CONCLUSIONES	17
BIBLIOGRAFÍA	18

RESUMEN

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad rara caracterizada por la degeneración y pérdida de las neuronas motoras en la que su etiología no está del todo clara y no existe un tratamiento curativo. Los únicos fármacos comercializados en el mundo capaces de reducir un poco la progresión de la enfermedad son el riluzol, en forma de comprimidos recubiertos y suspensión para su administración por vía oral, y el edaravone, en forma de infusión intravenosa por presentar baja biodisponibilidad por vía oral.

Este trabajo reúne varios estudios con los que se intenta, por un lado, aumentar la eficacia del riluzol y, por otro, conseguir aumentar la biodisponibilidad del edaravone para que pueda ser administrado por vía oral.

Palabras clave: Esclerosis Lateral Amiotrófica, riluzol, edaravone, eficacia, biodisponibilidad oral

ABSTRACT

Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a rare disease characterized by the degeneration and loss of motor neurons. Its etiology is not entirely clear and there is no curative treatment. The only drugs marketed in the world that can slightly reduce the progression of the disease are riluzole, in the form of coated tablets and suspension for oral administration; and edaravone, in the form of an intravenous infusion due to its low oral bioavailability.

This work brings together several studies that attempt, on the one hand, to increase the effectiveness of riluzole and, on the other hand, to increase the bioavailability of edaravone so that it can be administered orally.

Key words: Amyotrophic Lateral Sclerosis, riluzole, edaravone, efficacy, oral bioavailability.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta selectivamente a las neuronas motoras superiores, situadas en la corteza cerebral, y/o inferiores, las cuales se encuentran en el tronco del encéfalo y en la médula espinal.

Los términos “esclerosis lateral” hacen referencia a la pérdida de fibras nerviosas acompañada de cicatrización glial o esclerosis en la región lateral de la médula espinal, y “amiotrófica” indica la atrofia muscular, el desgaste de los músculos inervados por esas neuronas motoras, ya que dejan de recibir señales. Como resultado, aparece una debilidad muscular asimétrica progresiva que suele ir acompañada de hiperreflexia y fasciculaciones, avanzando hacia la parálisis total del paciente. Se afectan las capacidades de andar, moverse, hablar, tragar, masticar y respirar; sin embargo, la movilidad ocular, la sensibilidad

cutánea y el control de los esfínteres se mantienen intactos, así como las funciones mentales en la mayor parte de los casos debido a que esas motoneuronas presentan más resistencia. Finalmente, el paciente suele acabar falleciendo a los 3-5 años del inicio de la enfermedad por insuficiencia respiratoria. [Van Damme et al, 2017]

La ELA, junto a sus variantes (esclerosis lateral primaria, atrofia muscular progresiva y parálisis bulbar progresiva), constituye la enfermedad de neurona motora más frecuente del adulto, pero es una enfermedad rara en la que la incidencia es alta pero la prevalencia es baja debido a la alta mortalidad que presenta. La incidencia observada en estudios en población occidental oscila entre 1 a 2 casos por 100.000 habitantes y año y en España se detectan anualmente 1,4 casos por 100.000 habitantes. Además, se ha visto que hay diferencias entre razas: hay una incidencia mayor en la población blanca que en la mestiza y afroamericana.

La prevalencia de la ELA se sitúa entre 2 a 5 casos por 100.000 habitantes y se calcula que en España hay más de 3.000 enfermos.

La edad media de aparición se encuentra entre los 60-69 años, con un pico de incidencia a los 70-75 años y una disminución en edades superiores, siendo más frecuente en varones que en mujeres en Occidente, pero en los estudios afroamericanos esta diferencia se invierte. [Camacho et al, 2018]

Esta enfermedad se puede clasificar según su etiología en esporádica y familiar, pero son indistinguibles con respecto a sus características clínicas. La ELA esporádica es aquella en la que aparece un caso aislado en una familia, surge por interacción genética - medio ambiente y es la más frecuente (90-95% de todos los casos). Por otro lado, la familiar (5-10% restante) incluye a los pacientes que en su familia tienen también algún caso de ELA o de demencia fronto-temporal de primer o segundo grado, ya que se han visto mutaciones compartidas, y sigue la mayoría de veces un patrón de herencia autosómica dominante, pero también hay casos descritos con un patrón autosómico recesivo y ligado al sexo dominante. [Camacho et al, 2018]

Aunque todavía no se conoce con certeza el mecanismo por el que se produce la ELA, se han propuesto algunos como la homeostasis de proteínas, el metabolismo del ARN, el transporte endosómico y vesicular, la reparación del ADN, la excitotoxicidad, la disfunción mitocondrial, la autofagia, el transporte de nucleocitoplasmas, la degeneración de oligodendrocitos, el transporte axonal y la neuroinflamación. [Tripolszki et al, 2019]

Por otro lado se han identificado mutaciones en uno de los genes causantes de la ELA familiar, el cual codifica para la enzima Superóxido Dismutasa Citosólica (SOD-1). Esta enzima tiene un papel importante en la disminución del estrés oxidativo: cataliza la conversión del anión superóxido (radical libre tóxico) en agua oxigenada. Todavía se desconoce el mecanismo por el que esta enzima mutada causa la muerte de las motoneuronas. [Cervantes-Aragón et al, 2019]

En definitiva, la ELA es una enfermedad progresiva y debilitante para la que no existe un tratamiento curativo, por lo que su terapéutica está basada desde su inicio en medidas paliativas de control de síntomas. Todo esto conlleva a una importante discapacidad y

dependencia que repercute en los costes sanitarios y sociales asociados a la enfermedad. [Camacho et al, 2018]

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica sobre los tratamientos para la Esclerosis Lateral Amiotrófica, incluyendo medicamentos autorizados, medicamentos huérfanos que contienen como principios activos riluzol o edaravone y los nuevos sistemas de administración de estos activos que se encuentran en investigación. En la revisión se discuten y comparan las ventajas, inconvenientes y eficacia terapéutica de todos ellos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica en diferentes bases de datos como Pubmed, Medline, Google Académico, Bucea, CIMA; Utilizando palabras clave como "ELA", "Tratamiento ELA", "Riluzol", "Edaravone", "Nanosistemas" "Nanotransportadores", tanto en castellano como en inglés.

En primer lugar, se llevó a cabo una revisión general de la Esclerosis Lateral Amiotrófica. A continuación, una búsqueda bibliográfica sobre los tratamientos autorizados para esta enfermedad, los cuales contienen riluzol o edaravone, y finalmente, se ha realizado una búsqueda sobre los nuevos avances de administración de dichos principios activos. Los resultados obtenidos se comparan para seleccionar la formulación o formulaciones que se consideren más adecuadas.

RESULTADOS

MEDICAMENTOS AUTORIZADOS Y MEDICAMENTOS HUÉRFANOS

➤ RILUZOL

En el momento actual, no se conoce completamente la patogénesis de esta enfermedad. Uno de los mecanismos posibles se encuentra asociado a la excitotoxicidad por glutamato (neurotransmisor excitatorio), es decir, la muerte de neuronas motoras por una excesiva activación de los receptores de glutamato en la hendidura sináptica, ya que se han observado elevadas concentraciones de glutamato en el tejido cerebral en pacientes con Esclerosis Lateral Amiotrófica.

El riluzol es el único principio activo aprobado por las diferentes agencias nacionales e internacionales como tratamiento modificador del progreso de la ELA. Es un benzotiazol cuyo mecanismo de acción no se conoce con certeza, pero se ha propuesto que actúa

inhibiendo procesos relacionados con el glutamato. Se ha postulado que podría reducir la activación neuronal e inactivar canales de sodio dependientes de voltaje. [Bellingham, 2011] [Bryson et al, 1996]

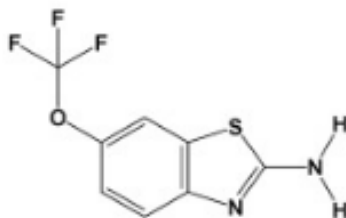


Figura 1. Estructura química del riluzol.

Los medicamentos aprobados en España que contienen riluzol son los siguientes:

- Comprimidos recubiertos con película:
 - Rilutek 50 mg (autorización: 01/07/1997). La Agencia Europea del Medicamento aprobó una autorización de comercialización de riluzol bajo la marca Rilutek válida en toda la Unión Europea en 1996.
 - Riluzol PMCS 50 mg (autorización: 03/12/2012).
 - Riluzol SUN 50 mg (autorización: 21/11/2011).
- Suspensión oral:
 - Teglutik 5 mg/mL suspensión oral (autorización: 07/02/2014). Únicamente se emplea cuando la vía oral está comprometida.

Estos medicamentos están indicados para prolongar la vida o aumentar el tiempo hasta que se instaura la ventilación mecánica en los pacientes con ELA. Ensayos clínicos han demostrado que el riluzol aumenta la supervivencia media en unos 2 a 3 meses a una dosis diaria de 100 mg (50 mg cada 12 horas).

Tanto los comprimidos como la suspensión oral poseen un perfil farmacocinético dosis-independiente. El riluzol se absorbe rápidamente tras la administración oral con concentraciones plasmáticas que aparecen entre los 60 y los 90 minutos, absorbiéndose el 90% de la dosis, siendo la biodisponibilidad absoluta del 60% ± 18%. Sin embargo, la velocidad y la cantidad que se absorbe se reduce cuando el riluzol se administra con comidas de alto contenido graso. En cuanto a su distribución, posee una elevada unión a proteínas plasmáticas y atraviesa la barrera hematoencefálica (BHE), teniendo un volumen de distribución de aproximadamente 3'4 L/kg. Se metaboliza por el citocromo P-450 seguido de glucuronidación y se elimina mayoritariamente por orina. Su semivida de eliminación varía entre 9 y 15 horas.

La exposición total a riluzol 50 mg comprimidos y a riluzol 5 mg/mL suspensión oral es bioequivalente, pero el riluzol se absorbe más rápido tras la administración de la suspensión oral (tiempo máximo de 30 minutos) con una concentración máxima aproximadamente un 30% mayor que tras la administración de los comprimidos. [AEMPS] [EMA]

Por otro lado, es importante destacar que existe una suspensión oral de riluzol y no una solución porque es un principio activo lipófilo, con poca solubilidad acuosa a pH neutro. Ésta aumenta si se disminuye el pH pero la estabilidad química empeora en condiciones ácidas, por lo que una formulación en forma de solución acuosa de riluzol no resulta conveniente. [Dyer AM et al, 2016] [Keating GM et al, 2016]

No hay datos que indiquen que el riluzol ejerza un efecto terapéutico sobre la función motora, la función pulmonar, las fasciculaciones, la fuerza muscular, los síntomas motores y, además, no ha mostrado ser eficaz en la fase tardía de esta enfermedad. No se recomienda su uso en población pediátrica debido a la falta de datos sobre su seguridad y eficacia. Está contraindicado su uso durante el embarazo y la lactancia y debe prescribirse con precaución en los pacientes con antecedentes de función hepática anómala o con concentraciones séricas ligeramente elevadas de transaminasas, bilirrubina y/o gammaglutamil transferasa. Entre las reacciones adversas más frecuentemente comunicadas se encuentran pruebas de función hepática anómalas, además de astenia y náuseas. [AEMPS] [EMA]

➤ EDARAVONE

El edaravone (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona) es un principio activo antioxidante que actúa como eliminador de radicales libres, disminuyendo así el estrés oxidativo. Este estrés tiene un papel importante en la patogénesis de la Esclerosis Lateral Amiotrófica, ya que se descubrió que mutaciones en el gen de la Superóxido Dismutasa Citosólica (SOD-1) son una de las causas de la ELA familiar, aunque aún se desconozca el mecanismo. [Bhandari et al, 2018] [Cervantes-Aragón et al, 2019]

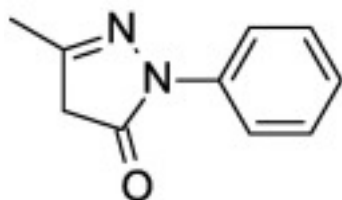


Figura 2. Estructura química del edaravone.

Este principio activo se encuentra comercializado en varios países en forma de infusión intravenosa bajo el nombre de Radicut y de Radicava. Se aprobó en 2001 en Japón como tratamiento coadyuvante del ictus isquémico y fue en 2015 cuando este país lo aprobó para el tratamiento de la ELA bajo el nombre de Radicut. En Estados Unidos fue aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*) en 2017 bajo el nombre de Radicava y este medicamento fue autorizado en 2018 en Canadá por Health Canada y en 2019 en Suiza por Swissmedic. Por otro lado, Radicut fue aprobado en Corea del Sur (2015) y en 2019 en China por la NMPA (*National Medical Products Administration*). [Bhandari et al, 2018]

La Agencia Europea del Medicamento (EMA) no lo ha aprobado todavía pero Radicava fue designado medicamento huérfano el 19 de junio de 2015 para la Esclerosis Lateral Amiotrófica. Aún no ha sido autorizado debido a que el 24 de mayo de 2019, Mitsubishi Tanabe Pharma GmbH notificó oficialmente al Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) que deseaba retirar su solicitud de autorización de comercialización.

El estudio que mostró la empresa para solicitar la autorización se realizó en 137 pacientes con ELA que recibieron Radicava o un placebo, en el que se examinaron en qué grado evolucionaron los síntomas de los pacientes a lo largo de 24 semanas, utilizando una escala estándar conocida como «tasa de calificación funcional de ELA revisada» (ALSFRS-R), al igual que hizo en los otros países donde ha sido autorizado.

El Comité observó que el estudio principal mostró mejoras significativas en las puntuaciones de ALSFRS-R en pacientes que recibieron Radicava en comparación con los que recibieron placebo, pero el estudio se realizó solo con un número reducido de pacientes, por lo que no había pruebas suficientes de mejoras en otras medidas importantes como las relacionadas con la supervivencia, la respiración y la fuerza muscular. Finalmente, Mitsubishi Tanabe Pharma GmbH retiró su solicitud de autorización de comercialización de Radicava debido a que el CHMP consideró que los datos proporcionados eran insuficientes y no permitían alcanzar una conclusión positiva del balance beneficio-riesgo. [EMA]

Infusión intravenosa de edaravone

Su posología se basa en la administración de 60 mg de la misma durante unos 60 minutos, en ciclos de 28 días [Bhandari et al, 2018]. Para el ciclo inicial, el tratamiento se infunde durante 14 días consecutivos, seguido por un período de dos semanas libres de fármacos. Todos los ciclos posteriores se infunden durante 10 días dentro de un período de 14 días, seguido por un período libre de fármaco de dos semanas.

Las reacciones adversas más comunes que presenta este principio activo son reacciones cutáneas (hematomas) y trastornos de la marcha. Además cabe destacar que el medicamento Radicava contiene bisulfito de sodio, el cual puede causar síntomas anafilácticos que pueden ser mortales en personas con sensibilidad al sulfito. [FDA]

En cuanto a la farmacocinética de la infusión intravenosa de edaravone, se ha hallado que el fármaco se une a las proteínas plasmáticas en un 92%. Se metaboliza por la enzima UGT (uridina difosfato glucuronosiltransferasa), la cual conjuga el edaravone con glucurónido para formar metabolitos inactivos, y por sulfotransferasas, pero no interviene el citocromo P-450. Su vida media de eliminación oscila entre 4'5 y 6 horas y se excreta por orina principalmente. [Cruz MP, 2018] [Kuźma-Kozakiewicz, 2018]

Además, tiene baja biodisponibilidad por vía oral, que puede deberse a la pobre solubilidad acuosa que presenta, la baja estabilidad y permeabilidad a lo largo del tracto digestivo y el gran metabolismo de fase II que sufre. También es sustrato de la bomba de eflujo P-gp, que contribuye a esta baja biodisponibilidad oral. [Parikh et al, 2017]

Los inconvenientes de que exista únicamente esta formulación de edaravone son las estancias en el hospital, los mayores gastos sanitarios y la incomodidad de administración para los pacientes y por ello interesa la creación de formulaciones orales de este principio activo.

Formulación oral en ensayos clínicos

Actualmente se encuentra en marcha un estudio con una formulación oral patentada de la formulación intravenosa de edaravone (Radicava) en población europea por parte de la compañía Treeway llamado TW001. Se ha probado ya en estudios de fase 1 de dosis única y

múltiple en pacientes sanos y en pacientes con ELA. TW001 ha demostrado ser seguro, tener una buena tolerabilidad y además se han detectado niveles de edaravone adecuados con esta formulación oral. Se van a realizar ensayos clínicos fase 2/3. Por otro lado, TW001 recibió el estatus de designación de medicamento huérfano por la Agencia Europea de Medicamentos en 2014 y por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) en 2015. [Treeway]

NUEVOS SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE RILUZOL

Para que el riluzol pueda ejercer su mecanismo de acción debe atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), que al tratarse de una barrera protectora solo permite el paso de un número reducido de sustancias. Por otro lado, es sustrato de la bomba de eflujo P-gp (glicoproteína P), la cual actúa expulsando a muchas de las sustancias que atraviesan la barrera al torrente circulatorio. Este transportador se encuentra sobreexpresado en esta enfermedad, y expulsa el riluzol a la sangre, por lo que de este modo no puede atravesar bien dicha barrera. Una de las razones por las que se reduce la eficacia del tratamiento con riluzol a los 21 meses de tratamiento es debida a la fármaco-resistencia, asociada a ese aumento de P-gp.

Uno de los nuevos sistemas de administración de este principio activo planteado en un estudio realizado por Yang et al. (2018) serían los liposomas, los cuales podrían encapsular el riluzol y un inhibidor de P-gp como el verapamilo, un antiarrítmico, y así se aumentaría la eficacia del tratamiento, permitiendo una mayor entrada al cerebro de riluzol.

Los liposomas son estructuras vesiculares nanométricas constituidas por una o más bicapas lipídicas concéntricas, formadas por fosfolípidos y colesterol, que encierran un número igual de compartimentos acuosos. Ofrecen un sistema de administración de medicamentos que aumenta potencialmente su estabilidad in vitro e in vivo, controla su tasa de liberación y mejora su administración en el cerebro.

En el estudio realizado por Yang et al. (2018) se elaboraron liposomas compuestos de diestearoilfosfatidilcolina (DSPC), colesterol y fosfoetanolamina y polietilenglicol (DSPE-PEG 2000) usando el método de hidratación de capa fina. Así, consiguieron obtener tamaños de partícula entre 170 y 200 nm, que resultan adecuados para que puedan atravesar la BHE.

Con estos liposomas cargados de riluzol y verapamilo realizaron cuatro estudios in vitro, utilizando como modelo de BHE células endoteliales bEND.3 y astrocitos C8D1A, con el fin de observar su eficacia en el tratamiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica:

- Estudio de la inhibición de P-gp en células bEND.3 en condiciones normales.
Se trataron estas células con liposomas de verapamilo y riluzol a diferentes dosis y duraciones de tiempo y se comprobó que la expresión de P-gp disminuía linealmente y dependía de la concentración y del tiempo de tratamiento. No se utilizaron los astrocitos por tener menor expresión de la bomba de eflujo en comparación con las células endoteliales.

- Estudio de la inhibición de P-gp en células bEND.3 y en astrocitos C8D1A sometidos a TNF- α y a peróxido de hidrógeno, con el fin de simular el estado inflamatorio de esta enfermedad, en comparación con una solución de verapamilo y riluzol.
Las expresiones de P-gp aumentaron de forma dosis-dependiente al tratar dichas células con TNF- α y peróxido de hidrógeno. Por otro lado, este estudio in vitro demostró que el verapamilo dentro de los liposomas produce un silenciamiento significativamente mayor de P-gp, en comparación con el verapamilo en la solución, y esto puede deberse a que los liposomas pueden transportar el fármaco encapsulado y entrar en las células mediante endocitosis, evitando la difusión pasiva o el transporte mediado por receptor. Como resultado, el verapamilo encapsulado no es bombeado fuera de las células por P-gp y permanece así más cantidad dentro de ellas disminuyendo la expresión de P-gp.
- Estudio del paso a través de la BHE.
Para este estudio se utilizó rodamina 123, sustrato fluorescente de P-gp, con el objetivo de confirmar si este transportador era responsable de la farmacoresistencia al riluzol y observar así la eficacia del verapamilo en la inhibición de la bomba de eflujo. Así, los liposomas cargados con riluzol y verapamilo fueron capaces de inhibir la función de P-gp, pudiendo el riluzol atravesar la BHE sin ser expulsado a la sangre.
- Estudio de la captación de riluzol en las células bEND.3.
Este trabajo demostró una disminución significativa en la acumulación de riluzol en las células estimuladas con TNF- α en comparación con las células normales, que se restablece cuando se añaden los liposomas cargados de riluzol y verapamilo. Además, se encontró la absorción máxima de riluzol en las células bEND.3. normales tratadas con los liposomas cargados de riluzol y verapamilo.

Los resultados obtenidos por estos autores mostraron que la acción inhibitoria del verapamilo, encapsulado junto con el riluzol en los liposomas, promovió la captación celular de los sustratos de P-gp, es decir, el riluzol y la rodamina 123. De esta manera se demuestra que podría ser una terapia efectiva para superar la farmacoresistencia del riluzol en el tratamiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica, aunque serían necesarios más estudios sobre la estabilidad morfológica, propiedades farmacocinéticas y seguridad de la formulación.

NUEVOS SISTEMAS DE ADMINISTRACIÓN DE EDARAVONE

La administración de edaravone por infusión intravenosa ocasiona mayores gastos y mayor incomodidad para los pacientes. Con el fin de poder administrar el edaravone por vía oral se han realizado diversos estudios, como los que expongo a continuación.

➤ COMPRIMIDOS SUBLINGUALES DE EDARAVONE

En China, la compañía *Nanjing Lifecare Pharmaceutical Co, Ltd.* desarrolló unos comprimidos de edaravone de administración sublingual de 30 mg con el fin de conseguir una formulación de este principio activo extravascular que facilitara su uso clínico y el cumplimiento terapéutico, cuyos estudios preclínicos en perros de la raza beagle han dado buenos resultados en cuanto a la tolerabilidad y biodisponibilidad.

Decidieron elaborar comprimidos sublinguales para evitar las pérdidas por el efecto de primer paso intestinal que se producen con la vía oral, ya que los comprimidos sublinguales se absorben directamente en la mucosa bucal. Además, la vía sublingual resulta más conveniente para aquellos pacientes que presentan disfagia, síntoma común en la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

Para su fabricación eligieron excipientes con baja humedad, realizando todo el proceso de síntesis y purificación en ausencia de oxígeno y de luz, recubriéndolos con una película y empleando una lámina de poliéster/aluminio/polietileno como material de acondicionamiento, ya que el edaravone es un principio activo que se degrada fácilmente por hidrólisis alcalina y oxidación.

Wang et al. (2018) decidieron realizar un estudio para comparar la biodisponibilidad de estos comprimidos sublinguales de 30 mg de edaravone con la de la infusión intravenosa de 30 mg existente de edaravone, además de observar la tolerabilidad, en pacientes voluntarios sanos de sexo masculino con una edad comprendida entre los 18 y 65 años y con un peso mínimo de 50 kg, además de tener un índice de masa corporal entre los 19 y 28 kg/m².

De esta manera, desarrollaron un ensayo clínico en un único centro, abierto, randomizado, de dosis única y cruzado, para que cada paciente fuera su propio control, en 10 pacientes varones voluntarios sanos (11 fueron reclutados, pero como uno presentó un síncope vasovagal antes de realizar este ensayo, se le excluyó). Este tamaño muestral se eligió en base a los datos existentes en guías sobre los estudios farmacocinéticos de moléculas pequeñas, así como los datos del tamaño de muestra de los estudios piloto de bioequivalencia.

En este ensayo, cada paciente en el día 0 de cada periodo de estudio recibió la administración de la infusión intravenosa durante 30 minutos o bien, el comprimido sublingual de edaravone y, entre los dos periodos de dosis, se llevó a cabo un periodo de lavado de al menos 24 horas. Para evaluar los resultados se recogieron varias muestras de sangre antes y después de administrar la dosis.

Los resultados que obtuvieron fueron los siguientes:

- Biodisponibilidad

El ensayo realizado mostró muy buenos resultados con una gran similitud entre ambas formulaciones. Como cabía esperar, la C_{max} y el AUC fueron ligeramente inferiores y el T_{max} fue superior en los comprimidos sublinguales. La C_{max} de los comprimidos sublinguales correspondió al 83'92% de la C_{max} de la infusión intravenosa; el AUC_{0→t} de los comprimidos fue el 91'94% y el AUC_{0→∞} fue el 92'08%. Sin embargo, estos autores, atribuyen el aumento del T_{max} al tiempo que tarda el comprimido sublingual de edaravone en ser disuelto y pasar a sangre (hasta unos 30 minutos tarda en disolverse).

- Tolerabilidad

La tolerabilidad se evaluó viendo los efectos adversos, las anormalidades en los signos vitales y observando determinados parámetros clínicos en el laboratorio. A lo largo del ensayo únicamente se apreciaron dos manifestaciones adversas en dos pacientes distintos: hipotensión y molestias en la lengua. Sin embargo, como estos pacientes ya presentaron alguna vez estos síntomas antes de entrar en el estudio, el investigador no consideró que fueran causados por este medicamento.

Las diferencias obtenidas comentadas en la biodisponibilidad podrían conducir a cambios significativos en el resultado clínico. Por esta razón, para ver si ambas formulaciones son intercambiables, deberían de hacerse ensayos clínicos en pacientes con ELA de mayor tamaño muestral y de mayor tiempo de seguimiento, pero aún así estos ensayos podrían no alcanzar los objetivos fijados debido a la gran variabilidad entre los pacientes y las evaluaciones subjetivas del investigador. En vista de los resultados obtenidos Wang et al. 2018 proponen aumentar la dosis de los comprimidos sublinguales de edaravone, asumiendo que este principio activo sigue una farmacocinética lineal.

➤ **FORMULACIÓN ORAL LÍQUIDA DE EDARAVONE**

Parikh et al. (2016) realizaron un estudio para conseguir una formulación oral líquida en solución de edaravone con buena biodisponibilidad, ya que esta forma farmacéutica facilitaría la administración y el cumplimiento en los pacientes con esta enfermedad.

Para ello, primero, llevaron a cabo un estudio de preformulación con el objetivo de conocer las características físico-químicas del edaravone para poder elegir los excipientes adecuados para su formulación, consiguiendo así una buena biodisponibilidad oral:

- Perfil de solubilidad

Observaron una mejora significativa de solubilidad a pH básico (pH de 8-10), comparando con la solubilidad en agua. Esto podría deberse a que el aumento de la solubilidad depende del grado de ionización del fármaco, que al tener estructura fenólica, es un ácido débil con un pKa de 7 que, por tanto, se ioniza en medio alcalino. Por esta razón, emplear un ambiente básico podría ser una opción para aumentar la solubilidad del edaravone.

- Estudio de estabilidad

Es muy importante este estudio, ya que la estabilidad de este principio activo influye en la eficacia y seguridad.

Vieron que el edaravone se ioniza y se degrada rápidamente en ambientes básicos por hidrólisis alcalina por tener estructura fenólica, por lo que es preferible, a pesar de su peor solubilidad, desarrollar el nuevo sistema de administración oral en un ambiente ácido. Además, por ese grupo fenol que posee, es susceptible a oxidarse por transferencia de electrones y por ello es importante desarrollar un sistema de administración que lo proteja. Sin embargo, no observaron diferencias significativas en cuanto a la termoestabilidad y fotoestabilidad.

- Determinación del coeficiente de reparto
La absorción de un fármaco depende de su capacidad para atravesar las membranas biológicas tras su disolución. Para determinar la permeabilidad se estudió el valor de su coeficiente de reparto octanol-agua, $\log P_o/W$, ya que éste determina la forma en la que el edaravone se distribuye en estos dos medios, simulando el octanol a las membranas biológicas por tener una lipofilia similar.
Su resultado fue de 1'20 en agua y 1'10 en PBS (pH de 7'4), lo que significa que el edaravone presenta una naturaleza lipofílica. Sin embargo, presenta poca permeabilidad por ser sustrato de la bomba de eflujo P-gp.

Con este estudio de preformulación observaron que algunos factores críticos para desarrollar una formulación oral líquida estable de edaravone eran la protección frente a factores de oxidación y un ambiente ácido. Por esta razón, consideraron que la mejor opción para desarrollarla era una preparación acuosa con un pH ácido de 4 con un co-solvente apropiado.

De esta manera decidieron emplear como tensoactivo Labrasol (LBS), al dar buenos resultados en la absorción oral de algunos fármacos como la vancomicina, gentamicina, rifampicina y heparina de bajo peso molecular, facilitando su solubilización, su permeabilidad y protegiéndolos del extenso metabolismo, ya que modula la bomba de eflujo P-gp. Además, se ha visto que el LBS es un inhibidor de la enzima UGT, por lo que esto también contribuiría a aumentar la biodisponibilidad por vía oral del edaravone.

Con esta nueva formulación realizaron diferentes estudios:

- Ensayo de inhibición de la glucuronidación de edaravone por LBS
Llevaron a cabo este ensayo *in vitro* de incubación de microsomas hepáticos de ratas macho Wistar para evaluar el efecto inhibitorio de LBS en el metabolismo del edaravone empleando como control positivo el terpeno borneol. Como resultado obtuvieron una inhibición significativa de la glucuronación en presencia de LBS en comparación con la obtenida por el borneol.
- Estudio de solubilidad y estabilidad
Para optimizar la proporción de solución acuosa ácida y LBS estudiaron diferentes mezclas, y observaron en ellas la mejora en la solubilidad del edaravone cuánto más LBS contenían. Las causas de este aumento de la solubilidad podrían ser el efecto co-disolvente directo y la formación de micelas.
Por otro lado, evaluaron la estabilidad de la formulación líquida de la composición que seleccionaron, con una concentración de edaravone al 3% p/v, siguiendo las pautas de las ICH (a 4 y 25 °C con un 60% de humedad relativa y a 40 °C con 75 % de humedad relativa). Con esta formulación obtuvieron una buena estabilidad física y química.
- Estudio de liberación *in vitro*
Para su realización utilizaron la formulación que estaban desarrollando y otra formulación líquida de edaravone suspendida en carboximetilcelulosa sódica (CMC). Ambas formulaciones se introducen en una bolsa de diálisis para llevar a cabo el ensayo.

De esta manera observaron una liberación sostenida del edaravone en la formulación que estaban desarrollando, lo que podría indicar una alta afinidad entre el edaravone y el LBS. Esto podría deberse a la cadena de polietilenglicol que posee el LBS, la cual podría limitar la liberación del fármaco después de la formación de las micelas, comparando con la suspensión de CMC.

- Estudio *ex vivo* de la permeación y el metabolismo del edaravone
Para este estudio emplearon el intestino delgado extirpado de ratas macho Sprague Dawley (300 ± 25 g), comparando con borneol como control positivo y edaravone libre. Así, la nueva formulación mostró una cantidad de edaravone transferida en 2 horas entre 5 y 2'5 veces superior en comparación con el edaravone libre y el borneol, respectivamente. Por ello, dedujeron que el LBS podría ser causa de este aumento en la permeabilidad debido a su efecto inhibitorio sobre la glucuronidación y a su efecto sobre la bomba de eflujo P-gp.
- Estudio farmacocinético
Realizaron este estudio con ratas macho Sprague Dawley (300 ± 25 g). A un grupo de estas ratas se les administró por vía oral en ayunas la nueva formulación y al otro una suspensión de edaravone en CMC, y se determinaron varios parámetros farmacocinéticos. El C_{max} de la formulación que estaban desarrollando fue significativamente superior que el de la suspensión de edaravone en CMC. Sin embargo, no observaron diferencia significativa en el T_{max} . El tiempo de vida media (semivida) fue significativamente más largo en la nueva formulación, probablemente debido a que el LBS puede formar micelas, quedando el edaravone ahí atrapado. También observaron una mejora significativa en la biodisponibilidad oral de la formulación en desarrollo en comparación con la suspensión en CMC.

En conclusión, esta nueva formulación de administración oral podría ser una prometedora alternativa consiguiendo una buena biodisponibilidad oral que podría deberse a una combinación de la mejora en la solubilidad, estabilidad, permeabilidad intestinal y reducción del metabolismo extenso. De esta forma, este estudio demuestra la importancia en la selección de los excipientes apropiados para conseguir una formulación exitosa de edaravone que supere los obstáculos que impiden su administración por vía oral

➤ **NANOSISTEMAS LIPÍDICOS DE EDARAVONE**

Parikh et al. (2017) desarrollaron nanosistemas lipídicos con el objetivo de aumentar la biodisponibilidad oral del edaravone. Los nanosistemas lipídicos consisten en una mezcla isotrópica de aceite, surfactante y co-tensoactivos que, después de diluirse con agitación suave, forman microemulsiones con un tamaño de gota menor de 100 nm, lo que aumenta la rapidez de disolución y de absorción y protege al fármaco de la degradación gastrointestinal, ya que éste queda atrapado mayoritariamente en la microemulsión. Además, estas nanogotículas podrían difundirse a través de la circulación linfática evitando el metabolismo de primer paso.

Los nanosistemas lipídicos pueden ser líquidos o sólidos. Los líquidos presentan mayores problemas de estabilidad como, por ejemplo, las interacciones entre los componentes y

problemas relacionados con la oxidación del aceite. Por esta razón es interesante convertir los nanosistemas lipídicos líquidos en sólidos empleando adsorbentes sólidos.

Parikh et al. (2017) eligieron los excipientes basándose en la capacidad de éstos para mejorar los parámetros físico-químicos del edaravone, es decir, la solubilización en fluidos gastrointestinales, su permeabilidad a lo largo del tracto gastrointestinal y reducir su glucuronización. De esta manera desarrollaron un nanosistema lipídico líquido usando:

- Como aceite, Capryol PGMC (30%), basándose en un estudio de solubilidad crítico para evitar la precipitación del principio activo durante el almacenamiento.
- Como tensoactivos (50%), una mezcla de Cremophor RH40, Labrasol y TPGS 1000 (1:0'8:0'2) para mejorar la solubilidad y la disolución. Con esta combinación consiguieron formar una microemulsión con un buen efecto inhibitorio de la enzima UGT y de la bomba de eflujo.
- Como co-tensoactivo, Transcutol P (20%), para mejorar la estabilidad del nanosistema y la capacidad de emulsificación de la mezcla de tensoactivos seleccionada.

De esta manera consiguieron elaborar un nanosistema lipídico líquido con un tamaño de gota de 16,25 nm, un índice de polidispersidad de 0'039, un porcentaje de transmitancia de 99'85% y un tiempo de auto-emulsificación de unos 32 segundos. Con él, se mejoró significativamente la carga de edaravone, así como su metabolismo y permeabilidad, pero esta formulación presentaba como inconvenientes la baja estabilidad y la baja portabilidad durante la fabricación. Con el fin de superarlos, desarrollaron un nanosistema lipídico sólido empleando Aerosil 200.

Con los nanosistemas lipídicos realizaron los siguientes estudios *in vitro*:

- Estudio de liberación del edaravone.
En este estudio observaron que el edaravone se solubilizó mejor a pH gastrointestinal y vieron que el nanosistema lipídico líquido poseía una mayor velocidad de liberación que la suspensión. La formulación con menor velocidad de liberación fue el nanosistema lipídico sólido. En cambio, a pH intestinal, la velocidad de liberación es superior en ambos nanosistemas en comparación con la suspensión. De esta manera comprobaron que los nanosistemas aumentaban la velocidad de liberación y de disolución y esto podía deberse al tamaño nanométrico de sus gotas y, por tanto, al incremento en su superficie específica. También confirmaron que la liberación de edaravone no dependía del pH.
- Estudio de neuroprotección
Para su realización utilizaron la línea celular de neuroblastoma derivado de humanos SH-SY5Y, SH-SY5YAPP695, la cual es un modelo común para probar la neurotoxicidad *in vitro*. Para su estudio, realizaron el ensayo MTT, de viabilidad celular, con el que se aprecia el efecto neuroprotector de la suspensión de edaravone y del nanosistema lipídico sólido. Para el modelo celular la citotoxicidad fue inducida por sulfato de

cobre, peróxido de hidrógeno y Abeta 42. Estos agentes imitan las condiciones que se producen en esta enfermedad. También llevaron a cabo un estudio de captación celular *in vitro* de la suspensión de edaravone y del nanosistema lipídico sólido.

Así, obtuvieron como resultados que el nanosistema tenía un mayor efecto neuroprotector, probablemente debido al surfactante TPGS, aunque no fue estadísticamente superior al de la suspensión de edaravone. Además, observaron una mayor captación celular del nanosistema en comparación con la suspensión.

Por otro lado, realizaron un estudio farmacocinético de una suspensión oral de edaravone y de los dos nanosistemas lipídicos en ratas Sprague-Dawley machos (300 ± 25 g) para evaluar sus respectivas absorciones orales. Observaron que los nanosistemas poseían una Cmax y un AUC significativamente superiores a la suspensión de edaravone, siendo los nanosistemas líquidos los que presentaron mayor biodisponibilidad oral, con mayores valores de Cmax y AUC.

Como resultados, tanto el nanosistema lipídico líquido como el sólido mostraron un excelente potencial para el desarrollo de formulaciones líquidas y sólidas, respectivamente, de edaravone, mejorando su biodisponibilidad oral, su concentración máxima y su tiempo de vida media en comparación con la suspensión oral de edaravone. Además, la velocidad de disolución fue significativamente mayor con ambos tipos de nanosistemas lipídicos en fluidos gástricos e intestinales. Por su parte, el nanosistema sólido mostró una mayor captación celular y un mejor efecto neuroprotector en comparación con la suspensión de edaravone en la línea celular SH-SY54695, lo que hace que sea una posible terapia prometedora.

DISCUSIÓN

El principio activo riluzol presenta poca eficacia a partir de los 21 meses de tratamiento debido al aumento de expresión en la barrera hemato-encefálica de la bomba de eflujo P-gp, que lo expulsa a la sangre impidiendo su acción. Por esta razón, el estudio de Yang et al. (2018) podría ser una buena estrategia para aumentar su paso al cerebro, ya que los liposomas elaborados encapsulan este principio activo con un inhibidor de la glicoproteína P, verapamilo, aumentando su estabilidad *in vitro* e *in vivo* y controlando su liberación. Sin embargo, son necesarios más estudios sobre la estabilidad morfológica, las propiedades farmacocinéticas y la seguridad de la formulación para poder confirmarlo.

El principio activo edaravone únicamente se puede administrar por vía intravenosa porque presenta baja biodisponibilidad por vía oral. Por ello, es necesario buscar una formulación con unos excipientes que permitan solubilizar la cantidad deseada, modular la bomba de eflujo P-gp para mejorar la permeabilidad e inhibir UGT para reducir el metabolismo con el fin de aumentar su biodisponibilidad por vía oral y poder así ser administrado por esta vía. Para conseguir esto, los estudios de Wang et al. (2018), Parikh et al. (2016) y Parikh et al. (2017) presentan tres formulaciones diferentes que pueden ser una interesante alternativa para la administración de edaravone por esta vía: comprimidos sublinguales, disolución y nanosistemas lipídicos líquidos y sólidos.

Cuando analizamos los resultados obtenidos con los comprimidos sublinguales, aunque presentan buenos resultados de biodisponibilidad, requieren aumentar la dosis y, este hecho, puede resultar incómodo para el paciente. En cambio, la disolución de edaravone con el tensoactivo LBS y los nanosistemas lipídicos mostraron buenos resultados en animales, especialmente las formulaciones de nanosistemas lipídicos sólidos. Las posibles razones son:

- Su tamaño nanométrico, que les permite difundirse a través de la circulación linfática evitando el metabolismo de primer paso.
- Tener excipientes que inhiben el metabolismo del edaravone, los cuales también los presenta la disolución.
- La formación de microemulsiones, pues en ellas queda atrapado mayoritariamente el edaravone, quedando así también protegido de la degradación.
- Por último, con los nanosistemas sólidos se ha realizado un estudio de neuroprotección que ha dado buenos resultados y con la disolución no.

CONCLUSIONES

Los trabajos de investigación consultados revelan la importancia que adquieren los excipientes empleados, para elaborar una formulación eficaz de riluzol y/o edaravone en el tratamiento de la Esclerosis Lateral Amiotrófica.

Los liposomas de riluzol que contienen un inhibidor de la glicoproteína P, verapamilo, podrían ser una interesante estrategia para favorecer el paso de riluzol a través de la BHE y mejorar la eficacia de este fármaco.

El edaravone únicamente se puede administrar por vía intravenosa. El desarrollo de formulaciones que permitan su administración oral resulta un importante avance para mejorar los tratamientos. Los nanosistemas lipídicos sólidos, que se encuentran en investigación, han conseguido resultados de neuroprotección prometedores, aunque se requieren estudios más profundos.

BIBLIOGRAFÍA

Agencia Española del medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Teglutik 5 mg/mL suspensión oral. [En línea]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/78243/FT_78243.html [13/03/2020].

Agencia Española del medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Rilutek 50 mg comprimidos recubiertos con película. [En línea]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/96010001/FT_96010001.html [13/03/2020].

Agencia Española del medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Riluzol PMCS 50 mg comprimido recubierto con película EFG. [En línea]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/75131/FT_75131.html [13/03/2020].

Agencia Española del medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS). Ficha técnica Riluzol sun 50 mg comprimidos. [En línea]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/75015/FT_75015.html [13/03/2020].

Bellingham MC. A Review of the Neural Mechanisms of Action and Clinical Efficiency of Riluzole in Treating Amyotrophic Lateral Sclerosis: What have we Learned in the Last Decade?. CNS Neuroscience & Therapeutics. 17(1): 4-31. 2011.

Bhandari R., Kuhad A., Kuhad A. Edaravone: a new hope for deadly amyotrophic lateral sclerosis. Journals on the web, Clarivate Analytics. 54(6): 349-360. 2018.

Bryson HM., Fulton B., Benfield P. Riluzole. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic potential in amyotrophic lateral sclerosis. Drugs. 52(4): 549-563. 1996.

Camacho A., Esteban J., Paradas C. Informe de la Fundación del Cerebro sobre el impacto social de la esclerosis lateral amiotrófica y las enfermedades neuromusculares. Neurología. 33(1): 35-46. 2018.

Cervantes-Aragón I., Ramírez-García S., Baltazar-Rodríguez L., García-Cruz D., Castañeda-Cisneros G. Aproximación genética en la esclerosis lateral amiotrófica. Gaceta Médica de México. 155: 513-521. 2019.

Cruz MP. Edaravone (Radicava). A Novel Neuroprotective Agent for the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Pharmacy and Therapeutics. 43(1): 25-28. 2018.

Dyer AM, Smith A. Riluzole 5 mg/mL oral suspension: for optimized drug delivery in amyotrophic lateral sclerosis. Drug Design, Development and Therapy. 11: 59-64. 2016.

European Medicines Agency (EMA). EPAR summary for the public: Rilutek. [En línea]. Disponible en: https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/rilutek-epar-summary-public_en.pdf [14/03/2020].

European Medicines Agency (EMA). Retirada de la solicitud de autorización de comercialización de Radicava (edaravone). [En línea]. Disponible en https://www.ema.europa.eu/en/documents/medicine-qa/questions-answers-withdrawal-marketing-authorisation-application-radicava-edaravone_es.pdf [16/03/2020].

Keating GM. Riluzole oral suspension in amyotrophic lateral sclerosis: a guide to its use. *Drugs & Therapy Perspectives*. 32: 282-286. 2016.

Kuźma-Kozakiewicz, M. Edaravone in the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. *Neurologia i Neurochirurgia Polska*. 52(2): 124-128. 2018.

López-Casero A., Peiró T., Escobar M., García A. La ELA una realidad ignorada, Tu farmacéutico Te acompaña. Fundación Luzón y Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. 2019.

Fundela. Tesis de Alberto García Redondo. [En línea] Disponible en: <https://www.fundela.es/FilesRepo/9/U/I/W/mayMtnpSAj-tesisalbertogarciaredondo.pdf>

Parikh A., Kathawala K., Tan C., Garg S., Zhou X. Development of a novel oral delivery system of edaravone for enhancing bioavailability. *International Journal of Pharmaceutics*. 515: 490-500. 2016.

Parikh A., Kathawala K., Tan C., Garg S., Zhou X. Lipid-based nanosystem of edaravone: development, optimization, characterization and in vitro/in vivo evaluation. *Drug Delivery*. 24: 962-978. 2017.

Treeway. TW001: Oral formulation of edaravone. [En línea]. Disponible en: <http://treeway.nl/r-d/> [17/03/2020].

Tripolszki K., Gampawar P., Schmidt H., Nagy Z., Nagy D., Klivényi P., Engelhardt J., Széll M. Comprehensive Genetic Analysis of a Hungarian Amyotrophic Lateral Sclerosis Cohort. *Frontiers in Genetics*. 10: 732. 2019.

U.S. Food & Drug Administration (FDA). FDA approves drug to treat ALS. [En línea]. Disponible en: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-drug-treat-als> [16/03/2020].

Van Damme P., Robberecht W., Van Den Bosch L. Modelling amyotrophic lateral sclerosis: progress and possibilities. *Disease Models & Mechanisms*. 10 (5): 537-549. 2017.

Wang J., Chen X., Yuan B., Wang W., Xu C., Zhao W., Zhao P., Wang Y., Zhao X., Wang Y. Bioavailability of Edaravone Sublingual Tablet Versus Intravenous Infusion in Healthy Male Volunteers. *Clinical Therapeutics*. 40: 1683-1691. 2018.

Yang T., Ferrill L., Gallant L., McGillicuddy S., Fernandes T., Schields N., Bai S. Verapamil and riluzole cocktail liposomes overcome pharmacoresistance by inhibiting P-glycoprotein in

brain endothelial and astrocyte cells: A potent approach to treat amyotrophic lateral sclerosis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 120: 30-39. 2018.